

## **SUR LA MORPHOLOGIE ET LA TRANSMISSION D'EPERYTHROZON COCCOIDES (\*)**

par A. RAFYI et P.H. VERCAMMEN-GRANDJEAN (\*\*)

*(Institut d'Etat des Sérums et Vaccins Razi, Hessarek, Iran)*

Eperythrozoon coccoides Schilling, 1928 (13) est un organisme un peu particulier. Il fut découvert quasi simultanément, et par Schilling en Allemagne, et par Dinger en Hollande (3). Ce dernier le dénomma Gyromorpha musculi qui est aujourd'hui synonyme de E. coccoides. Plusieurs auteurs en décrit la morphologie et il convient de citer notamment, outre les deux précités: Bruynoghe et Vassiliadis (1), Eliot et Ford (5), Lwoff et Vaucel (9), Kikuth (8), McCluskie et Niven (11), Marmorston (10), Weinman (15, 16, 17), Wigand (18) et Seamer (14).

Parasite relativement polymorphe, on peut en rencontrer les formes rondes, coccoïdes, annulaires, répandues dans le plasma ou appliquées à la surface des globules rouges. Leur diamètre moyen est compris entre 0,5 et 1 micron. Dans le sang des souris et des rats on les retrouve aisément libres dans le plasma ou sur les érythrocytes, et peut-être plus souvent accolés aux normocytes basophiles.

Toutes les formes annulaires n'ont pas un contour absolument régulier et certaines d'entre elles montrent une partie plus ou moins épaissie; d'autres

---

(\*) Ce travail a été réalisé avec l'aide du Ministère de la Santé des Etats-Unis (Post-Doctoral Research Fellowship Grant FF-419) et grâce à un don du National Institute of Allergy and Infectious Diseases, U.S. Public Health Service (PHS Research Grant E-3793).

(\*\*) A. Rafyi, Directeur de l'Institut d'Etat des Sérums et Vaccins, boîte postale 656, Téhéran Iran, et P.H. Vercammen-Grandjean, Research Parasitologist, G.W. Hooper Foundation, San Francisco 22, California, U.S.A.

Annales de l'Institut Pasteur, 1964, 106, No. 6, 938-942

possèdent des prolongements simples ou en paires, généralement disposés en vis-à-vis. On a décrit aussi des éléments bacilliformes. Cette morphologie n'est pas sans analogie avec les «pleuro-pneumonia-like organisms», ressemblance que Findlay et ses collaborateurs avaient déjà établie en 1939 (6). Cette similitude morphologique est sans doute plus marquée pour certaines formes filamenteuses et annulaires de *E. wenyonii* Delpy et Rafyi, 1938 (2).

Selon la position des éléments, c'est-à-dire suivant qu'ils sont vus de face ou de profil, les aspects varient. Ceci a produit une véritable efflorescence de descriptions de morphologies diverses; nous n'y reviendrons pas.

*E. coccoides* se colore se fort bien au Giemsa, prenant une couleur bleu pâle.

Sa tendance à se fixer plus électivement sur des normocytes polychromatophiles a conduit Lwoff et Vaucel (9) à déduire que la chromatophilie était due à la pénétration du parasite dans les normocytes. Les *Eperythrozoon* ne sont pas des parasites endoglobulaires; ils s'éparpillent à la surface des hématies et n'y sont qu'accollés ou adhérents. Leur multiplication a lieu par voie de division binaire simple, selon certains auteurs (1, 13), ou par bourgeonnement, selon d'autres chercheurs (3, 4).

Bruynoghe et Vassiliadis supposent que les formes coccoïdes, plus petites, se développent ultérieurement en formes annulaires.

## OBSERVATIONS NOUVELLES.

Alors qu'il poursuivait un travail sur la transmission d'un *Borrelia*, dont l'arthropode vecteur était *Ornithodoros parkeri* v. *californiensis*, l'un de nous (R.) observa dans le sang des souris en expérience la présence d'éléments coccoïdes très semblables à des anaplasmes, mais de bien plus petite taille. Des examens ultérieurs de frottis de sang, avant et après splénectomie des petits rongeurs, montra qu'il s'agissait d'*Eperythrozoon* de l'espèce *coccoides*.

**TECHNIQUE DE DETECTION.** — La technique de détection des *Borrelia* repose sur l'examen du sang en goutte épaisse, après coloration directe au Giemsa, sans aucune fixation préalable. Cette méthode rapide s'est révélée efficace pour la recherche des *Eperythrozoon* également. Elle requiert toutefois une certaine habitude qu'apportent des exercices d'observation répétés. Elle peut être appliquée également aux frottis de sang. Notre primo-observation d'*E. coccoides* eut lieu purement fortuitement lors d'un contrôle du sang d'une souris blanche (n° 25), qui avait été soumise à la piqûre d'un *Ornithodoros parkeri* F. huit jours plus tôt. Des corpuscules ronds, cocciformes, bien colorés au Giemsa se retrouvèrent en bon nombre

dans la goutte épaisse (non fixée).

MORPHOLOGIE d'E. coccoides (SOUCHE CALIFORNIENNE). — Nous avons étudié la morphologie de ce parasite sur de frottis de sang coloré au Giemsa suivant la méthode classique, c'est-à-dire après fixation à l'alcool méthylique. On rencontre toutes les formes déjà décrites par les auteurs cités plus haut. Cependant, les formes annulaires se présentent en plus grand nombre que les coccoides, et il convient de noter en outre que l'épaississement polaire de la plupart de ces anneaux semble favorable à la thèse d'une multiplication par bourgeonnement. Outre ces formes, nous rencontrons des bâtonnets, des massues, des raquettes ou des haltères. Toutes ces formes montrent une nette préférence pour les normocytes polychromatophiles, sur lesquels on les trouve accolées en grand nombre. Nous ajouterons que ces globules polychromatophiles sont courants et nombreux dans les frottis de sang de souris ou de rats absolument indemnes d'Eperythroozoon; circonstance qui semble devoir constituer une sérieuse contradiction de l'hypothèse de Lwoff et de Vaucel énoncée plus haut.

L'attachement préférentiel des parasites aux érythrocytes basophiles est-il en rapport avec leur nutrition? Nul ne le sait, mais ce ne serait pas impossible.

En 1958, Wigand (18) décrit E. coccoides après en avoir examiné un grand nombre d'éléments, tant au microscope à contraste de phase qu'au microscope électronique. Il constata, entre autres, que le sang en goutte épaisse ne montrait que des formes coccoides et il en déduisit que la forme naturelle de E. coccoides était «coccoïde», tandis que les aspects annulaires ne seraient que le résultat de la dessiccation.

Grâce à l'obligeance de M. le Professeur Balamut, de l'Université de Californie à Berkeley, nous avons pu examiner ces organismes suivant une méthode qu'il recommande (12). Il s'agit d'une coloration vitale à l'acridine-orange en solution aqueuse. La préparation est étudiée au microscope ordinaire sous une source lumineuse «HBO 200 Osram», en intercalant un filtre bleu «BG 2» et d'un autre filtre «OG 1 2,5 mm». Dans ces conditions, les Eperythroozoon ont l'aspect de petites sphères jaune pâle animées de légers mouvements browniens.

En dépit de ce qui précède, l'étude de la morphologie de ces parasites en frottis de sang colorés par la méthode ordinaire au Giemsa n'en garde pas moins toute sa valeur et ne peut être négligée. L'exemple suivant situera très bien notre point de vue. Récemment, en 1962, Hoyte (7) se livra à une étude attentive du sang de bovidés où il avait découvert des formes d'Eperythroozoon. S'appuyant notamment sur la morphologie propre à E. wenyoni,

il conclut à l'existence d'une autre espèce, qu'il appela *Eperythrozoon tega-nodes*. Il va sans dire que ces études étaient basées sur l'observation de frottis de sang colorés au Giemsa. Nous concluons en disant que, même si les images qu'offrent les frottis séchés et colorés sont artificielles — et peut-être fausses selon certaines opinions — elles n'en sont pas moins constantes spécifiquement parlant, et cela au cours d'innombrables passages à travers les animaux d'expérience de genres différents. Par ailleurs, cette méthode reste notre seul moyen de différenciation.

RECEPTIVITE DES ANIMAUX DE LABORATOIRE. — La sensibilité du rat, déniée par Mc Cluskie et Niven en 1934 (11), avait été démontrée par Bruynoghe et Vassiliadis en 1929 (1), Eliot et Ford en 1930 (5), et Kikuth en 1932 (8).

Nous avons injecté du sang infecté à des rats blancs relativement jeunes, et nous pouvons conclure que les éléments parasitaires sont bien visibles et parfaitement décelables dans les gouttes épaisses, tant avant qu'après la splénectomie. Cette dernière opération augmente considérablement le nombre des éléments.

Outre la souris blanche et le rat blanc, la souris grise s'est montrée également très réceptive.

La lapin fut inoculé avec succès par Bruynoghe et Vassiliadis en 1929 (1), et par Lwoff et Vaucel en 1931 (9). Pourtant, dans quelques expériences de passage sur lapin, tentées par nous avec la souche californienne, et malgré la splénectomie, nous ne sommes pas parvenus à retrouver d'*Eperythrozoon* dans le sang du lapin (gouttes épaisses, colorées sans fixation préalable au Giemsa).

Par contre, le cobaye s'est révélé un hôte réceptif après splénectomie. Nous avons retrouvé dans son sang les formes anaplasmoïdes accolées aux globules rouges. L'infection persiste visiblement durant plus d'un mois. Le nombre des éléments s'accroît ou se réduit périodiquement, suivant une allure dont nous ne sommes pas parvenus à déterminer la raison ni le rythme.

TRANSMISSION — Eliot et Ford ont démontré en 1930 (5), que le pou de la souris blanche (*Polyplax serrata*) est le vecteur habituel d'*E. coccoides*. Pourtant, des résultats négatifs furent enregistrés, après injection des broyats de ces mêmes poux et aussi de puces de souris, par divers auteurs: Bruynoghe et Vassiliadis en 1929 (1), Eliot et Ford en 1930 (5), et Weinman en 1935 (15).

La primo-observation d'*E. coccoides* dans le sang des souris blanches de laboratoire nous a donné à penser que l'infection pouvait avoir été intro-

duite par *Ornithodoros parkeri* v. *californiensis*, lors de son repas de sang. Sans vouloir avancer d'hypothèse sur la nature du facteur de transmission — qu'il soit *O. parkeri* ou tout autre vecteur inconnu — il reste un problème vectoriel que nous espérons combler dans l'avenir. Reprenons d'ailleurs quelques unes de nos observations. Nous avons nourri des nymphes d'*O. parkeri* sur des souris splénectomisées et fortement infectées d'*E. coccoides*. Plus tard, ces mêmes tiques, présumées infectées, furent nourries à nouveau sur des souris neuves et reconnues indemnes d'*E. coccoides*. Ces dernières souris n'ont jamais montré d'*Eperythrozoon* dans leur sang, même après splénectomie.

**PASSAGE d'*E. coccoides* PAR BROyat DE CERVEAU.** — Il est bien connu que certains parasites se conservent longtemps dans le cerveau des hôtes. Tel est le cas notamment pour les *Borrelia*. Nous avons tenté de transmettre les *E. coccoides* d'un animal infecté en broyant son cerveau et en injectant le broyat dans le péritoine d'un animal neuf. Le résultat s'est révélé satisfaisant. Cependant cette méthode n'offrira de réel intérêt que lorsqu'il sera pleinement établi que la conservation du parasite est mieux assurée dans le cerveau que dans le sang circulant ou viscéral.

**EMBRYON DE POULET.** — La culture sur embryon de poulet avec passage ultérieur d'embryon à embryon, selon Seamer (14), mériterait aussi d'être tentée, ce que nous proposons de réaliser dans l'avenir.

## RESUME

Une souche d'*Eperythrozoon coccoides* a été observée sur des souris blanches d'un laboratoire de la Fondation G.W. Hooper (University of California Medical Center) en Californie.

Elle se révéla transmissible à la souris grise, au rat blanc et au cobaye. Le lapin ne se montra pas réceptif.

L'examen à l'état frais après coloration vitale à l'acridine-orange permet de reconnaître des organismes ronds, circulaires, prenant une teinte jaune pâle et présentant des mouvements browniens.

L'examen du sang en goutte épaisse après coloration au Giemsa sans fixation préalable permet de déceler plus rapidement la présence d'*E. coccoides*.

Quelques tentatives de transmission d'E. coccoides par l'intermédiaire d'*Ornithodoros parkeri* v. *californiensis* sont restées infructueuses.

## SUMMARY

### EPERYTHROZON COCCOIDES, MORPHOLOGY AND TRANSMISSION

A strain of *E. coccoides* has been studied in albino mice in a laboratory of the G.W. Hooper Foundation (University of California Medical Center).

It proved transmissible to wild mice, albino rats and guinea pigs. Rabbits were non receptive.

Examination after orange-acridine vital staining showed the presence of spherical, light yellow microorganisms, presenting brownian movements.

Examination in dick drop after Giemsa staining and without previous fixation allows to demonstrate more rapidly the presence of *E. coccoides*.

A few attempts at transmission of *E. coccoides* through *Ornithodoros parkeri* proved negative.

\*  
\*   \*   \*

Nous remercions vivement le professeur J.R. Audy, directeur de la Fondation G.W. Hooper, qui a grandement facilité notre tâche. Egaleinent le professeur W. Balamut, le professeur P.C.C. Garnham et le D<sup>r</sup> D. Weimnan, lesquels ont bien voulu accepter d'examiner les frottis que nous leur avons soumis pour avis autorisé.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRUYNOGHE (R.) and VASSILIADIS (P.C.). *Ann. Parasitol.*, 1929, 7, 353.
- [2] DELPY (L.) et RAFYI (A.). *Bull. Acad. vét. France*, 1938, 11, 203.
- [3] DINGER (J.E.). *Centralbl. Bakt.*, 1929, 1, 503.
- [4] ELIOT (C.P.). *Science*, 1936, 84, 397.

- [5] ELIOT (C.P.) and FORD (W.W.). *Am. J. Hyg.*, 1930, 12, 677.
- [6] FINDLY (G.M.), KLIENEBERGER (E.), MAC CALLUM (F.O.) and MAC KENSIE (R.D.) *Tr. Roy. Soc. trop. Hyg.*, 1939,33.
- [7] HOYTE (H.M.D.). *Parasitol.*, 1962, 52, 527.
- [8] KIKUTH (W.). *Ergebn. Hyg. Bakt.*, 1932, 13, 559.
- [9] LWOFF (A.) et VAUCEL (M.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1931, 46, 258.
- [10] MARMOSTON (J.). *J. inf. Dis.*, 1935, 56, 142.
- [11] Mc CLUSKIE (J.A.W.) and NIVEN (J.S.F.). *J. Path. Bact.*, 1934, 39, 185.
- [12] ROTHSTEIN (N.). *J. Parasitol.*, 1958, 44, 588.
- [13] SCHILLING (V.). *Klin. Wschr.*, 1928, 1853.
- [14] SEAMER (J.). *J. gen. Microb.*, 1959, 21, 344-351.
- [15] WEIMAN (D.). *Les parasites érythrocytaires révélés par la splénectomie: Bartonella et Eperythrozoon* Paris, 1935.
- [16] WEIMAN (D.). *Tr. Amer. Phil. Soc. (N.S.)*, 1944, 320.
- [17] WEIMAN (D.). *In Bergey's manual of determinative bacteriology*, 7th edit. Baillier, Tindall et Cox, London, 1957.
- [18] WIGAND (R.). *Morphologische, biologische und serologische Eigenschaften der Bartonellen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1958.